

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

(11)公告編號: 171452

(44)中華民國80年(1991)10月21日

發明

全 10 頁

(51)Int. Cl.⁵: C12N15/13

(54)名稱: 抗體基因之模組, 其製備之抗體及其使用

(21)申請案號: 75105650

(22)申請日期: 中華民國75年(1986)11月27日

(72)發明人:

瑞迪 R·羅賓森

美國

阿文 Y·劉

美國

阿諾德 H·哈維茲

美國

藍道夫·沃爾

美國

(71)申請人:

國際遺傳工程學公司

美國

(74)代理人: 蔡坤財 先生

1

[57]申請專利範圍:

1. 一種碼編源自鼠類或人類之免疫球蛋白的重鏈或輕鏈之 J 區域的聚核苷酸分子, 其實質上具有一擇自下列羣中的該 J 區域之共通基因序列:

TGGTTCGACCITTTATTTG (MJK);
AGGGACCAACGGTCACCGTCTC (UIG-H);
GGGACCAACCTTGAG (UIG-K).

2. 一種碼編源自鼠類或人類之免疫球蛋白的重鏈或輕鏈之 J 區域的聚核苷酸分子, 其實質上具有一擇自下列羣中的該 J 區域之基因序列:

TGGCTGAGGAGACGGTGACCG (MHH);
TGGCTGAGCAGACTGTGAGAG (MHH2);
TGGCTGACAGACAGTGACCA (MHH3);
GAGACGGTGACGAGAGTCCCT (MHH3-15TEH);
GAGACGGTGACCA (MHH3-15TEH(13));
TGGCTGAGGAGACGGTGACTG (MHH4);
GGTGCCCTCCACCGAAGC (SJK1);
TTAGATCTCCAGCTTGGTCCC (JK28GLH);
GGTCCCCCTCCGAACGIG (SJK2);
TG1CCCCGAGCCGAAGC (SJK4);
TTAGATCTCCAACITTTGTCGCCG (JK38GLH);

2

GGTCCACGACCGAAGC (HJK5);
ATGGGCCCTTTGTGCTGGCTGAGGAGACTGT (MU 2-Apa1).

3. 一種直接製備一基因序列的方法, 該基因序列編碼一具有一人類恆定區域與一非人類(諸如鼠類)可變區域的免疫球蛋白鏈, 該可變區域帶有任一所欲專一性, 該方法包括:

5. (a) 提供一編碼一大體上完整的可變區域之 cDNA 基因序列, 該可變區域包含一 V 區域可操作地連結一 J 區域,

其中該步驟 (a) 進一步包括下列步驟:

10. (a') 自一分泌具該所欲專一性的單株抗體之細胞提供編碼該可變區域之 mRNA;

以及

15. (b') 藉由使用該 mRNA 作為一模版進行逆轉錄而引始由此衍生的 cDNA 之形成, 該 cDNA 具有一編碼申請專利範圍第 1 項關於 J 區域的共通基因序列或如申請專利範圍第 2 項關於 J 區域的基因序列;

(b) 提供一模組載體，該模組載體包含一編碼著該恆定區域之基因序列模組；以及

(c) 將該序列 (a) 可操作地連接至該模組載體 (b)。

4. 如申請專利範圍第 3 項之方法，其中步驟 (c) 包括將該 cDNA 序列可操作地連接至位於一質體內的該步驟 (b) 之序列。

5. 如申請專利範圍第 4 項之方法，其進一步包括將該質體性狀轉變至一可基因表現該質體之宿主體內。

6. 如申請專利範圍第 3、4 或 5 項之方法，

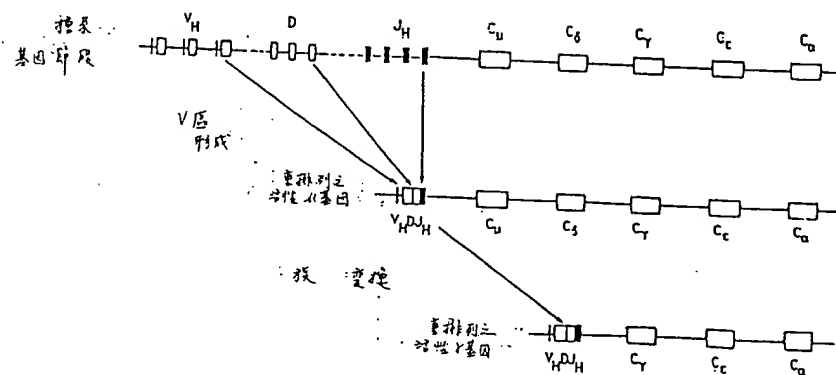
其中該鏈是一重鏈。

7. 如申請專利範圍第 3、4 或 5 項之方法，其中該鏈是一輕鏈。

8. 如申請專利範圍第 3 項之方法，其中該共通基因序列或該基因序列進一步包括一編碼著一內核酸限制酶的辨識位之序列。

9. 如申請專利範圍第 3 項之方法，其中該模組載體具有如載體 pING2003 與 pING2003E 所提供之內核酸限制酶位置圖譜，該等圖譜對於哺乳動物細胞內 cDNA 之基因表現很有用。

第 1 圖



第 2 圖

小鼠重链 J-C 区
小鼠重链 J 区 J | CH1

JH1 GCTGAATACCTCCAGCACTGGGGCCAGGGCACCTGGTCACCGTCTCCTCAG
 JH2 CTACTGGTACTTCGATCTCTGGGGCCGTTGGCACCTGGTCACGTCTCCTCAG
 JH3 ATGCTTTTGATGCTCTGGGGCCAGGGACAATGGTCACCGTCTCCTCAG
 JH4 ACTACTTTGACTACTCTGGGGCCAGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAG
 JH5 ACACGGCTTCGACTCTGGGGCCAGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAG
 JH6 AT(TAC)₅CGTATCGACCTCTGGGGCCAGGGACACCGTCTCCTCAG
 反向顺序 TCGACCTCTGGGGCCAGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAG

小鼠重链 J 区 J | CH1

JH1 TACTGGTACTTCGATGCTCTGGGGCCAGGGACACCGTCTCCTCAG
 JH2 TACTTTGACTACTGGGGCCAGGGACACCTCTCAGTCTCCTCAG
 JH3 CCTGGTTTGCTTACTGGGGCCAGGGACCTCTGTCACGTCTCCTCAG
 JH4 TACTATGCTATGGACTACTGGGGCCAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAG
 反向顺序 TTTGACTACTGGGGCCAGGGACACCGTCTCCTCAG

小鼠轻链 J-C 区
小鼠轻链 J 区 J | C

JK1 GCACGTTCCGGCCAGGGACCAAGGTGGAAATCAAAC
 JK2 ACACGTTTGGCCAGGGACCAAGGTGGAGATCAAAC
 JK3 TCACGTTTGGCCCTGGGACCAAGGTGGATATCAAAC
 JK4 TCACGTTTGGCCGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAAC
 JK5 TCACGTTTGGCCAGGGACCAAGGTGGAGATCAAAC
 反向顺序 TTGCGCCAGGGACCAAGGTGGAGATCAAAC

小鼠轻链 J 区 J | C

JK1 TGGACGTTCCGGTGGAGGCCAAGCTGGAAATCAAAC
 JK2 TACACGTTCCGGAGGGGACCAAGCTGGAAATCAAAC
 JK3 TTCACGTTCCGGTGGAGGCCAAGCTGGAAATCAAAC
 JK4 TTCACGTTCCGGTGGAGGCCAAGCTGGAAATCAAAC
 JK5 CTCACGTTCCGGTGGAGGCCAAGCTGGAGCTGAAAC
 反向顺序 TTCGGTGGGGGACCAAGCTGGAAATCAAAC
 3' TGGTTCGACCTTTATTTTG, 5'

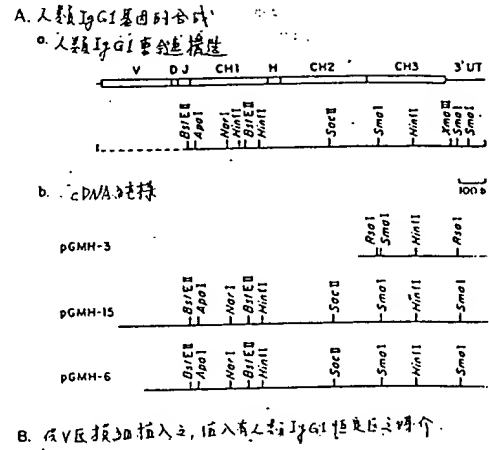
人重链 J 区 J | C

JPSL1 CACATGTTTGGCAGCAAGACCCAGCCCACTGCTTAC

人轻链 J 区 J | C

JL1 TGGCTCTTCGGTGGAGGAACCAAACTGACTGTCTTAG
 JL2 TATGTTTTCGGCGGTGGAAACCAAGGTCACTGTCTTAG
 JL3 TTTATTTTCGGCACTGGAACCAAGGTCACTGTCTTAG
 反向顺序 TTGCGCGGTGGAAACCAAGGTCACTGTCTTAG

第 4 圖



第 7 圖 (續)

C. 可變區及通引子.

... 可變區及通引子 ...

JH1 TACTGGTACTTCGATGCTCTGGGGCGAGGACCAC GGTACCC GTCTCCTCA
 JH2 TACTTTGACTACTGGGGCCAAAGGCCAC GGTACCC GTCTCCTCA
 JH3 CCTGGTTTGCTTACTGGGGCCAAAGGAC GGTACCC GTCTCTGCA
 JH4 TACTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGCCAC GGTACCC GTCTCCTCA

通引子: 5'-ATG-H AGGACCAC GGTACCC GTCTC
 BstEII
 3'-TCCCTGGTG CCAAGTG CAGAG 5'

... 可變區及通引子 ...

JK1 TGGACGTTCCGGTGGAGGCC AAGCTG GAGATCAAA
 JK2 TACACGTTCCGGAGGGGGGACC AAGCTG GAGATCAAA
 JK4 TTCACGTTCCGGCTCGGGGAC AAGCTG GAGATCAAA
 JK5 CTCACGTTCCGGTCTGGGACC AAGCTG GACCTGAAA

5'-ATG-X GGGACC AAGCTT GAG
 HindIII
 3'-CCCTGG TTCGAA CTC 5'

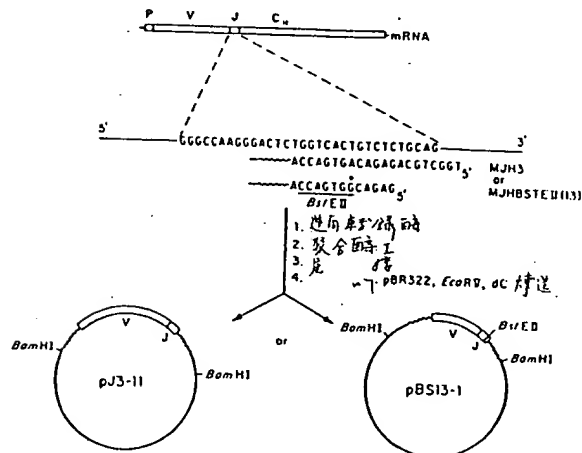
pGHL60 GAGGGGACC AAGGTG GAGATGAAA
 HindIII

D. 可變區及通引子.

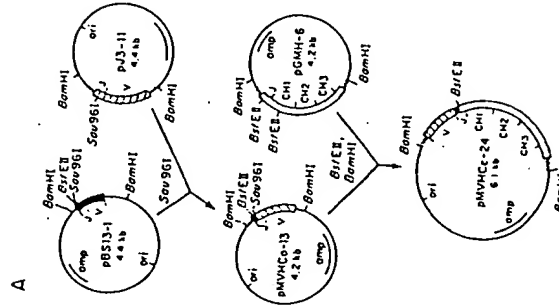
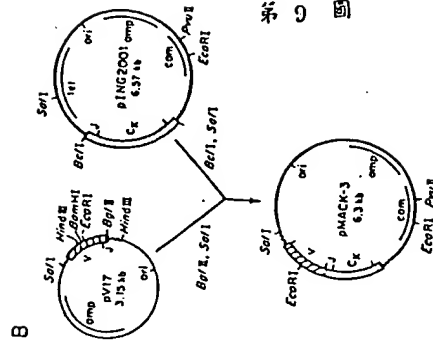
MJH²-ApaI TGTCAGAGGAGTCGGTCGTGTTTCCCGGGTA
 3' ApaI 5'

第 8 圖

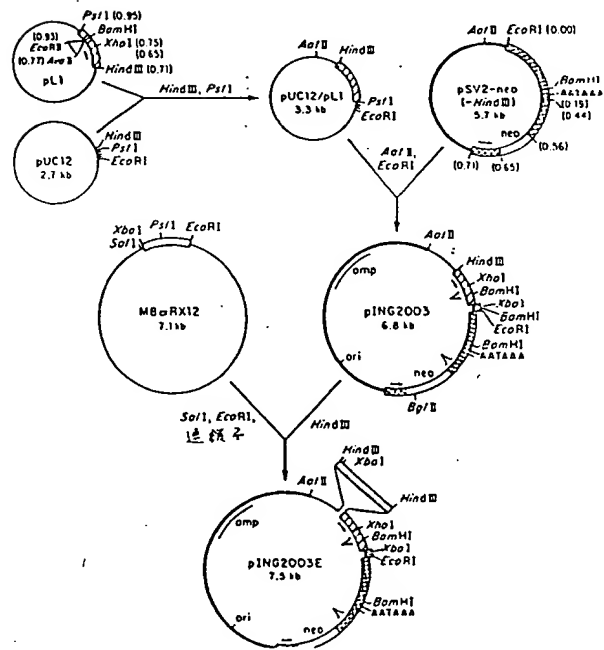
可變區及通引子基因合成.



第9圖



第10圖



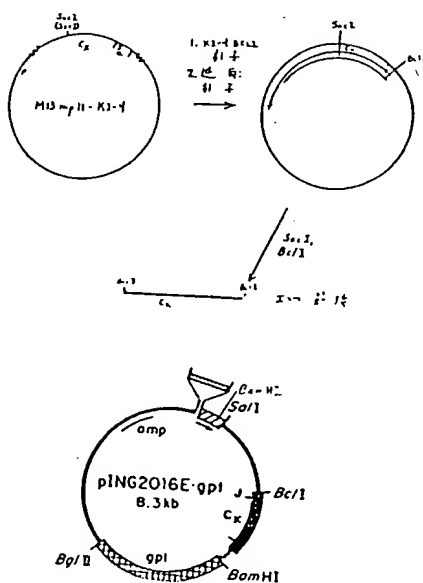
A

人 25 JK4 (pK2-3)

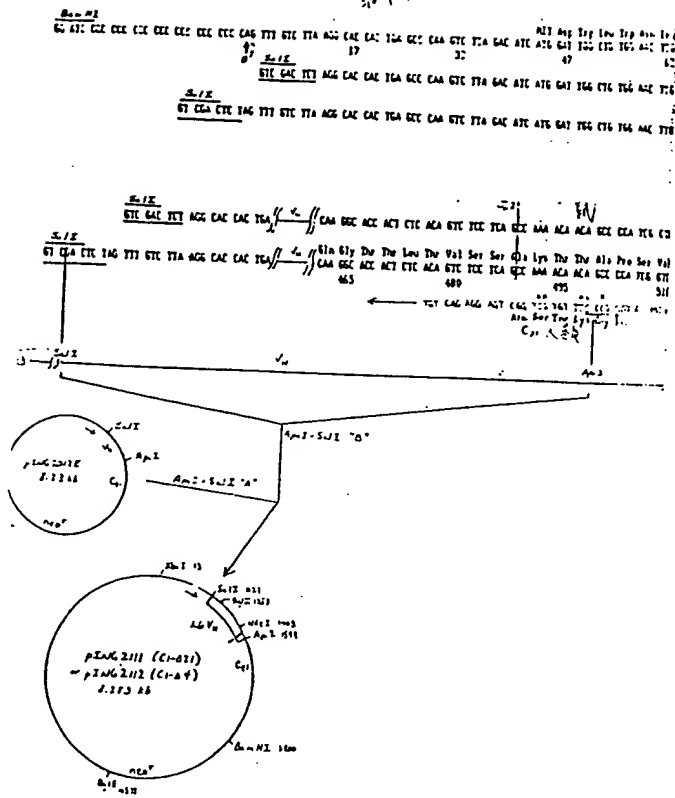
His	Ile	Ser	Leu	Ser	Leu	Val	Glu	Ala	Pro	Arg	Trp	Arg	...
UAC	ATC	TTC	CTT	CTC	CTT	CGC	GAG	GCA	GCA	AGC	TGC	TCA	AAC
801	812	821	830	839	848	857	866	875	884	893	902	911	920

His 1011 1020 1029 1038 1047 1056 1065 1074 1083 1092 1101 1110 1119 1128 1137 1146 1155 1164 1173 1182 1191 1200 1209 1218 1227 1236 1245 1254 1263 1272 1281 1290 1300 1309 1318 1327 1336 1345 1354 1363 1372 1381 1390 1400 1409 1418 1427 1436 1445 1454 1463 1472 1481 1490 1500 1509 1518 1527 1536 1545 1554 1563 1572 1581 1590 1600 1609 1618 1627 1636 1645 1654 1663 1672 1681 1690 1700 1709 1718 1727 1736 1745 1754 1763 1772 1781 1790 1800 1809 1818 1827 1836 1845 1854 1863 1872 1881 1890 1900 1909 1918 1927 1936 1945 1954 1963 1972 1981 1990 2000 2009 2018 2027 2036 2045 2054 2063 2072 2081 2090 2100 2109 2118 2127 2136 2145 2154 2163 2172 2181 2190 2200 2209 2218 2227 2236 2245 2254 2263 2272 2281 2290 2300 2309 2318 2327 2336 2345 2354 2363 2372 2381 2390 2400 2409 2418 2427 2436 2445 2454 2463 2472 2481 2490 2500 2509 2518 2527 2536 2545 2554 2563 2572 2581 2590 2600 2609 2618 2627 2636 2645 2654 2663 2672 2681 2690 2700 2709 2718 2727 2736 2745 2754 2763 2772 2781 2790 2800 2809 2818 2827 2836 2845 2854 2863 2872 2881 2890 2900 2909 2918 2927 2936 2945 2954 2963 2972 2981 2990 3000 3009 3018 3027 3036 3045 3054 3063 3072 3081 3090 3100 3109 3118 3127 3136 3145 3154 3163 3172 3181 3190 3200 3209 3218 3227 3236 3245 3254 3263 3272 3281 3290 3300 3309 3318 3327 3336 3345 3354 3363 3372 3381 3390 3400 3409 3418 3427 3436 3445 3454 3463 3472 3481 3490 3500 3509 3518 3527 3536 3545 3554 3563 3572 3581 3590 3600 3609 3618 3627 3636 3645 3654 3663 3672 3681 3690 3700 3709 3718 3727 3736 3745 3754 3763 3772 3781 3790 3800 3809 3818 3827 3836 3845 3854 3863 3872 3881 3890 3900 3909 3918 3927 3936 3945 3954 3963 3972 3981 3990 4000 4009 4018 4027 4036 4045 4054 4063 4072 4081 4090 4100 4109 4118 4127 4136 4145 4154 4163 4172 4181 4190 4200 4209 4218 4227 4236 4245 4254 4263 4272 4281 4290 4300 4309 4318 4327 4336 4345 4354 4363 4372 4381 4390 4400 4409 4418 4427 4436 4445 4454 4463 4472 4481 4490 4500 4509 4518 4527 4536 4545 4554 4563 4572 4581 4590 4600 4609 4618 4627 4636 4645 4654 4663 4672 4681 4690 4700 4709 4718 4727 4736 4745 4754 4763 4772 4781 4790 4800 4809 4818 4827 4836 4845 4854 4863 4872 4881 4890 4900 4909 4918 4927 4936 4945 4954 4963 4972 4981 4990 5000 5009 5018 5027 5036 5045 5054 5063 5072 5081 5090 5100 5109 5118 5127 5136 5145 5154 5163 5172 5181 5190 5200 5209 5218 5227 5236 5245 5254 5263 5272 5281 5290 5300 5309 5318 5327 5336 5345 5354 5363 5372 5381 5390 5400 5409 5418 5427 5436 5445 5454 5463 5472 5481 5490 5500 5509 5518 5527 5536 5545 5554 5563 5572 5581 5590 5600 5609 5618 5627 5636 5645 5654 5663 5672 5681 5690 5700 5709 5718 5727 5736 5745 5754 5763 5772 5781 5790 5800 5809 5818 5827 5836 5845 5854 5863 5872 5881 5890 5900 5909 5918 5927 5936 5945 5954 5963 5972 5981 5990 6000 6009 6018 6027 6036 6045 6054 6063 6072 6081 6090 6100 6109 6118 6127 6136 6145 6154 6163 6172 6181 6190 6200 6209 6218 6227 6236 6245 6254 6263 6272 6281 6290 6300 6309 6318 6327 6336 6345 6354 6363 6372 6381 6390 6400 6409 6418 6427 6436 6445 6454 6463 6472 6481 6490 6500 6509 6518 6527 6536 6545 6554 6563 6572 6581 6590 6600 6609 6618 6627 6636 6645 6654 6663 6672 6681 6690 6700 6709 6718 6727 6736 6745 6754 6763 6772 6781 6790 6800 6809 6818 6827 6836 6845 6854 6863 6872 6881 6890 6900 6909 6918 6927 6936 6945 6954 6963 6972 6981 6990 7000 7009 7018 7027 7036 7045 7054 7063 7072 7081 7090 7100 7109 7118 7127 7136 7145 7154 7163 7172 7181 7190 7200 7209 7218 7227 7236 7245 7254 7263 7272 7281 7290 7300 7309 7318 7327 7336 7345 7354 7363 7372 7381 7390 7400 7409 7418 7427 7436 7445 7454 7463 7472 7481 7490 7500 7509 7518 7527 7536 7545 7554 7563 7572 7581 7590 7600 7609 7618 7627 7636 7645 7654 7663 7672 7681 7690 7700 7709 7718 7727 7736 7745 7754 7763 7772 7781 7790 7800 7809 7818 782

B.

[illegible][illegible]

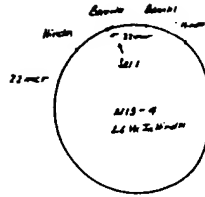
第17圖



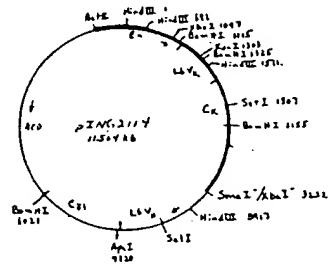
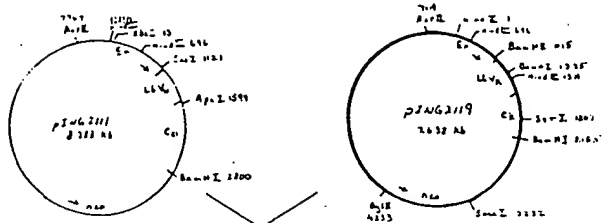
§19 圖

5' 24 kb

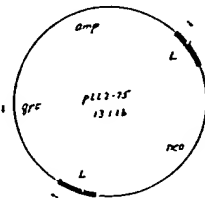
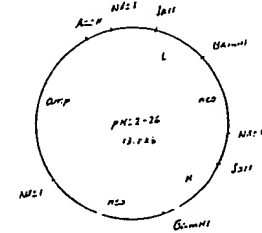
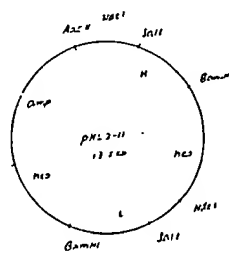
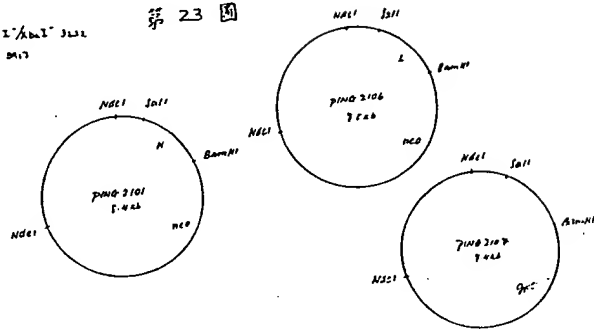
MCE GAP pAB
 -CCCCAAGACAAAATGGATTTTC-
 111
 OTC
 ScaI



B.



§23 圖



第24圖

247 融合物

V_{H} pM1-2 (201) 在 *Bgl* II 位點，*Nco* I 切下 5'-ATC- → pMG 2101 pG

*S*al I
↓
5' GTC GAC ATG GGA

接合 $\xrightarrow{\text{Hind III}}$ ACC GTC ACC GTC TC⑦ TCA | $\xrightarrow{\text{CpI}}$ CCC TCC

V_{H} pL2-12 (201) 在 *Hind* III 位點，*S*al I 切下 5'-ATC- → pMG 2106 pG
pMG 2107 pG

*S*al I
↓
5' GTC GAC AAA ATG GAT

接合 $\xrightarrow{\text{Hind III}}$ ACC AAG CT⑦ GAG ⑧ TCA AAA | $\xrightarrow{\text{CpI}}$ CGA ACT